

Fatty Acid를 Ligand로한 Cyclodextrin Adsorbent의 제조와 α -, β -, γ -Cyclodextrin의 분획

정 승 환 · 박 동 찬 ·†이 용 현
경북대학교 자연과학대학 유전공학과

Formation of Cyclodextrin Adsorbent Using Fatty Acid as a Ligand and Fractionation of α -, β - and γ -Cyclodextrins

Seung-Hwan Jeong, Dong-Chan Park and Yong-Hyun Lee†

Department of Genetic Engineering, College of Natural Sciences
Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

ABSTRACT

In order to fractionate α -, β - and γ -cyclodextrins(CDs) from CD reaction mixture, various CD adsorbents were manufactured using fatty acids as the ligand molecules and anion exchange resins as matrix. Among several anion exchange resins, DEAE Cellulose was found to be the most suitable matrix for binding fatty acid. The binding stability between DEAE Cellulose and capric acid was tested under the various operation conditions, such as temperature, ethanol concentration, and ionic strength. Specific CD adsorbents manufactured with different chain-length fatty acids, saturated and unsaturated, were compared in terms of the recovery yield and selectivity of α -, β - and γ -CDs. Stearic acid(C_{18} , saturated) was identified as the most effective ligand for fractionation of α -CD, and linoleic acid(C_{18} , unsaturated) for β -CD. The spacer length between the matrix and ligand was required for effective adsorption of CDs, and the double bond in fatty acid molecules was also acted as an important factor determining recovery yield and selectivity. The elution patterns of α - and β -CD from column packed with stearic acid and linoleic acid CD adsorbents were also investigated at the various elution conditions for fractionation of α - and β -CD.

서 론

Glucose가 $\alpha(1-4)$ 결합으로 환상으로 연결된 비 환원성 oligosaccharide인 cyclodextrin(CD)은 구성 glucose의 분자수에 따라 6개의 α -, 7개의 β -, 그리고 8개의 γ -CD의 세가지 형태로 나누어 진다.

CD 생산효소인 cyclodextrin glucanotransferase (CGTase)는 세종류의 CD를 동시에 생성할 뿐만 아니라 당전이반응, 가수분해반응과 같은 부반응도 촉매함으로 비환상 dextrins과 같은 각종 반응 부산물도 생성한다(1-6). 따라서 고순도 CD를 산업적으로 생산하기 위해서는 CGTase 반응 혼합물로부터 특정된 CD를 분리정제 할 필요가 있다.

CD 분리정제법으로는 용해도 차이에 의한 정출법

† Corresponding Author

(7), 유기용매를 이용한 침전법(8), 각종 이온교환수지의 흡탈착을 이용한 분획법(9), gel filtration 크로마토그래피를 이용한 분자크기에 의한 분획법(10), 초여과 막을 이용한 분획법(11-12) 등이 알려져 있다.

또한 최근에는 CD와 포접화합물을 형성하는 ligand 분자들을 고형 담체에 결합시켜 제조한 specific CD adsorbent를 충전한 친화성 크로마토그래피법을 이용한 CD 분획에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 효율적인 CD 분리 정제법으로 주목받고 있다(13-17). 그러나 발표된 CD adsorbent는 고가의 ligand를 사용하고 있고, ligand가 독성이 있는 경우가 많고, 또한 제조법도 매우 복잡하다는 결점이 있다. 따라서 새로운 ligand의 탐색, 새로운 CD adsorbent의 제조방법의 확립, 그리고 선별된 CD adsorbent를 이용한 α -, β -, 그리고 γ -CD의 고효율 분획에 관한 연구가 요망된다.

본 연구자들은 전보(1)에서 CD의 각종 ligand에 대한 포접화합물 형성능을 검토한 결과 fatty acid가 CD adsorbent제조에 적합한 ligand임을 확인하였고, 포접 반응조건의 영향을 검토하였으며, CD와 fatty acid간의 포접화합물의 구조적 특성을 X-ray diffraction과 IR spectrum을 이용하여 관찰하였고, 또한 complex 형성 반응의 열역학적 특성을 differential scanning calorimeter를 이용하여 규명한 바 있다.

본보에서는 fatty acid를 ligand로한 CD adsorbent를 제조하고 이를 이용하여 α -, β -, 그리고 γ -CD를 분획하기 위해 연구하였다. 먼저 ligand인 fatty acid 결합에 적절한 matrix를 비교 선정하였고, adsorbent 제조를 위한 반응조건 및 결합 안정성에 미치는 영향, 제조된 adsorbent의 CD흡착능, CD의 탈착 조건, 그리고 제조된 CD adsorbent를 이용한 CD의 분획을 위한 기초연구를 수행하였다. 이는 CD의 고순도 분리 정제에 적합한 효율성 있는 공정 개발에 활용될 것이다.

재료 및 방법

Cyclodextrin

분리정제된 고순도의 α -, β -, 그리고 γ -cyclodextrin(Cyclolab)을 host molecule로 사용하였다.

Ligand

Ligand로는 포화지방산인 caproic acid, caprylic acid, lauric acid, myristic acid, palmitic acid(이상

Junsei Chemical Co.), capric acid, stearic acid(이상 Yakuri Pure Chemical Co.), 그리고 불포화 지방산인 oleic acid(Shinyo Pure Chemical Co.)와 linoleic acid(Sigma Co.)를 사용하였다.

Matrix

Matrix는 각종 음이온교환수지로, hydrophobic한 Amberlite IRA 93, Amberlite IRA 900, Amberlite IRA 904, Amberlite CG 400, DOWEX-1, DOWEX-2, 그리고 hydrophilic한 DEAE Cellulose와 DEAE Sephadex A450(Sigma Co.)를 사용하였다.

CD Adsorbent의 제조 및 Matrix의 선별

음이온교환수지 2.5g을 0.5N HCl 20ml로 10분간 처리 여과하고, 다시 0.5N NaOH 20ml로 처리하여 activation시켰다. 여기에 ligand인 0.1M의 각종 fatty acid 용액 20ml를 혼합하여 상온에서 1시간 교반하여 ionic bond를 형성시켰다. 위의 혼합물을 column에 충전한후 50% ethanol로 미결합 fatty acid를 용출시켜 CD adsorbent를 제조하였다. 상기 실험조건에서 흡착된 fatty acid량을 측정하여 matrix를 선별하였다.

CD Adsorbent의 결합 안정성

CD adsorbent에 결합된 fatty acid를 column 온도를 20~60°C까지, 용출 용매중의 ethanol 농도를 30~80%까지, 그리고 ionic strength를 NaCl로 조절하여 0~5.0까지 변화시키면서 column에서 용출시켜 탈착된 fatty acid의 양을 원래 결합된 양과 비교하여 matrix와 fatty acid간의 결합 안정성을 검토하였다.

Affinity Chromatography를 이용한 α -, β 그리고 γ -CD의 분획

위에서 제조한 CD adsorbent 전량을 affinity chromatography column(ϕ 15mm \times 200mm)에 충전하고, 농도가 각각 10mg/ml인 α -, β -, γ -CD의 혼합용액 10ml를 flow rate 0.2ml/min로 흘러 CD를 흡착시킨후, 미흡착 CD를 20ml의 증류수로 세척제거한 후, column에 흡착된 CD를 20ml의 50% ethanol로 탈착시켜 1ml씩 회수하여 각 fraction 중의 α -, β -, 그리고 γ -CD의 농도를 측정하였다.

Cyclodextrin의 분석

CD의 분석에는 HPLC와 spectrophotometric 법

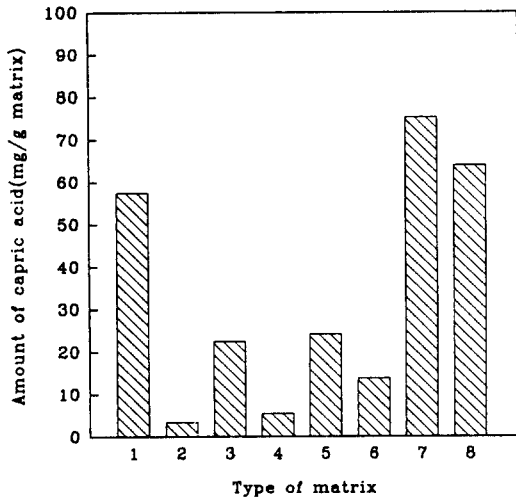


Fig. 1. Comparison of capric acid binding capacity of the various anion exchange resins. Anion exchange resin; 2.5g, 0.1M capric acid, and 25°C
 1; Amberlite IRA 93, 2; Amberlite IRA 900, 3; Amberlite IRA 904, 4; Amberlite CG 400, 5; DOWEX-1, 6; DOWEX-2, 7; DEAE Cellulose, 8; DEAE Sephadex A450.

을 이용하였다. HPLC 분석조건은 cosmosil 5-NH₂ column(Nacali Co.), acetonitrile/water(65:35), 1ml/min였고 RI detector를 이용하였다. α-CD는 methyl orange법(18), β-CD는 phenolphthalein 정색법(19), 그리고 γ-CD는 bromocresol green 비색법(18)을 이용하여 분석하였다.

Fatty Acid의 분석

Fatty acid는 alcoholic alkali법(20, 21)으로 정량하였다. 각종 fatty acid 용액 1ml에 50% ethyl alcohol 9ml를 첨가하고 phenolphthalein 용액 0.4ml를 가하여 상온에서 수분간 반응시킨 후 10mM의 NaOH로 적정하여 표준 곡선과 비교하여 농도를 결정하였다.

결과 및 고찰

Fatty Acid를 Ligand로한 CD Adsorbent 제조에 적합한 Matrix의 선별

적합한 matrix를 선별하기 위해서 capric acid를

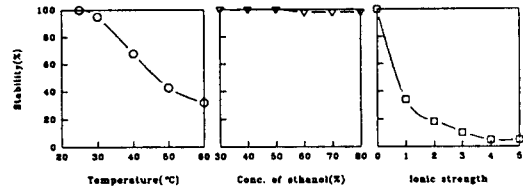


Fig. 2. Effect of temperature, ethanol concentration, and ionic strength on the binding stability between capric acid and DEAE Cellulose matrix.

ligand로하여 hydrophilic 그리고 hydrophobic한 각종 anion 교환 수지를 비교 검토하였다. Fig. 1은 capric acid를 음이온교환수지인 Amberlite IRA 93, Amberlite IRA 900, Amberlite IRA 904, Amberlite CG 400, DOWEX-1, DOWEX-2, DEAE Cellulose, 그리고 DEAE Sephadex A450와 반응시켜 결합된 ligand량을 비교하고 있다.

결합된 ligand량은 3.44부터 75.28mg/g까지 넓게 변화하였으며, hydrophilic 수지중에서는 DEAE Cellulose가 75.28, DEAE Sephadex A450가 64.00mg/g의 높은 결합량을 보였다. Hydrophobic 수지의 경우에는 Amberlite IRA 93만이 57.52mg/g으로 비교적 높은 수치를 보였다. 상기 matrix는 비교적 입자 크기가 작은 공통점을 가졌다. 일반적으로 교환 수지의 결합량은 작용기의 성질, 입자 크기, 그리고 이동상 중의 이온 등에 좌우되며, DEAE Cellulose도 입자 크기가 적을 뿐만아니라 작용기도 capric acid와 결합하기 용이한 구조를 갖고 있는 것으로 유추되며, CD adsorbent 제조에 적절한 matrix로 판단된다.

DEAE Cellulose와 Capric Acid간의 결합 안정성

Matrix에 결합된 ligand 분자가 CD를 분획하는 과정에서 matrix로부터 탈착 용출 된다면 CD의 분획 효율이 크게 감소하게 되므로, matrix와 fatty acid간의 결합안정성은 제조된 CD adsorbent의 효용성을 결정하는 매우 중요한 요소가 된다. 따라서 탈착조건인 온도, ethanol 농도, 그리고 ionic strength를 변화시켜 탈착되는 fatty acid의 농도를 측정하여 원래의 결합된 fatty acid량과 비교하여 안정성을 검토한 결과는 Fig. 2와 같다.

Ethanol의 농도 변화는 결합 안정성에 큰 영향을 미치지 않았다. 반면 온도와 ionic strength는 큰 영향을 미쳤는데, 온도의 경우 상온에서는 100%, 30°C

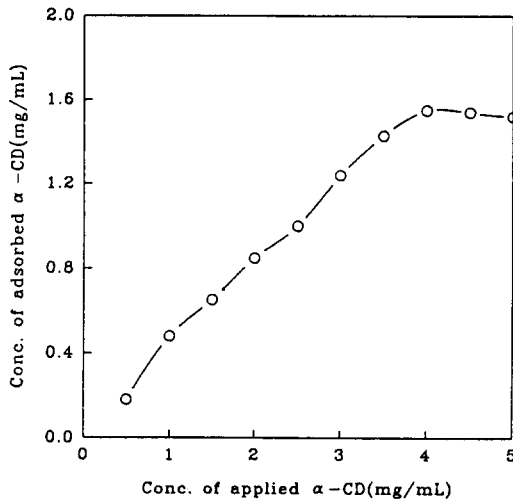


Fig. 3. Amount of adsorbed α -CD on the capric acid derivated DEAE Cellulose. 0.1M capric acid, DEAE Cellulose; 1g, flow rate; 0.2ml/min, and 25°C.

에서는 95%, 그리고 60°C에서는 32%의 안정성을 보여 온도가 증가할수록 안정성이 급속히 감소하였다. 이는 높은 온도에서는 용매의 water activity가 증가되므로 matrix와 fatty acid간의 ionic bond 결합력에 영향을 주기 때문으로 사료된다.

한편 ionic strength도 큰 영향을 미쳐 1.0일 경우 34.0%, 3.0에서는 10.1%, 그리고 5.0에서는 4.8%로 급속히 감소하였는데, 이는 ionic charge가 matrix에 결합하게 됨에 따라 ion 결합에 영향을 주어 결합된 ligand가 탈착시키기 때문이다.

또한 ethanol 농도의 영향을 30에서 80%까지 변화시켜면서 검토한 결과 모든 범위내에서 거의 100%에 가까운 안정성을 보여, ethanol에 의한 용출액의 hydrophobicity 변화는 결합 안정성에 큰 영향이 없음을 알 수 있었다. 위와 같은 사실은 capric acid를 ligand로한 CD adsorbent를 이용하여 흡착된 CD를 탈착시킬 경우에는 상온에서 ethanol을 용매로 사용함이 가장 적절한 방법임을 예시하고 있다.

DEAE Cellulose/Capric Acid CD Adsorbent의 흡착능 및 탈착량

흡착능: CD adsorbent의 효용성은 CD 흡착량과 밀접한 관계에 있으며, CD 흡착량을 검토하기 위하여 제조된 CD adsorbent를 column에 충전시킨후 α -

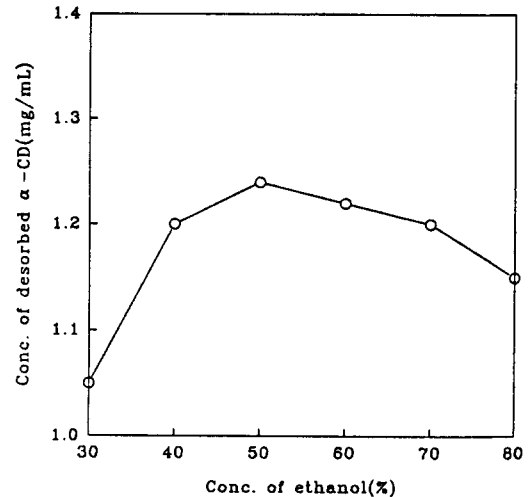


Fig. 4. Amount of desorbed α -CD on the capric acid derivated DEAE Cellulose. 4mg/ml of α -CD; 10ml, 0.1M capric acid, DEAE Cellulose; 1g, flow rate; 0.2ml/min, and 25°C.

CD의 농도를 0.5~5.0mg/ml로 변화시켜 matrix 1g당 10ml를 주입하여 흡착된 CD의 양을 측정 한 결과는 Fig. 3과 같다.

흡착량은 CD의 농도가 증가함에 따라 증가하였으나 4.0mg/ml 이상에서는 더 이상 증가하지 않았다. 한편 흡착수율은 0.5mg/ml에서 0.48 그리고 4.0mg/ml에서 0.34로 농도와 반비례하여 감소하였다. 흡착량과 흡착수율을 고려할때 DEAE Cellulose/capric acid CD adsorbent 흡착에 적합한 CD 농도는 4.0mg/ml 전후로 판단된다.

탈착능: CD adsorbent에 흡착된 CD의 탈착능을 검토하기 위하여 CD adsorbent를 column에 충전한 후 농도가 4.0mg/ml인 α -CD의 용액 10ml를 주입 CD를 흡착시킨후, 미흡착 CD를 세척 제거하고 흡착된 α -CD를 ethanol 농도를 30~80%까지 변화시키면서 탈착시켜 얻은 α -CD량을 측정하였으며, 그 결과는 Fig. 4와 같다. 탈착량은 ethanol농도가 30~50% 범위일때에는 증가하는 경향을 보인 반면 50~80% 범위내에서는 오히려 감소하였는데, 이는 ethanol 농도 변화에 따른 hydrophobicity의 변화가 흡착된 CD의 분리에 영향을 주기 때문이다. 탈착량이 가장 높은 ethanol농도는 50%로서 흡착된 CD의 91.85%가 탈착되었다.

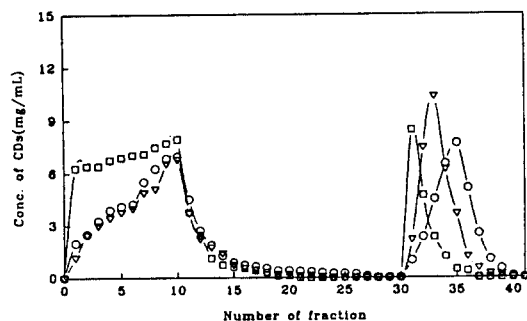


Fig. 5. The amount of recovered α , β , and γ -CDs during adsorption, washing, and desorption steps by the capric acid derived DEAE Cellulose.

α -CD(-○-); β -CD(-▽-); γ -CD(-□-) 10mg/ml of α , β , γ -CD mixtures; 10ml, 0.1M capric acid, DEAE Cellulose; 2.5g, flow rate; 0.2ml/min, elution with 50% ethanol, and 25°C.

CD Adsorbent의 α , β , γ -CD에 대한 Affinity와 각 CD의 용출 양상

α , β , 그리고 γ -CD에 대한 affinity와 용출양상을 검토하기 위하여 column에 충전된 CD adsorbent에 농도가 각각 10mg/ml인 α , β , γ -CD 혼합액 10ml를 흡착시키고, 미흡착 CD를 증류수 20ml로 세척한 후, 다시 흡착된 CD를 50% ethanol 용액 20ml로 탈착시켰다. Fig. 5는 위의 전과정인 흡착, 세척, 그리고 탈착과정에서 용출되는 CD 용액을 1ml씩 분획하여 각종 CD의 농도를 측정할 결과이다.

먼저 흡착과정에서 용출된 미흡착 CD의 농도를 측정한 결과 γ -CD가 높아 다른 CD에 비하여 affinity가 낮음을 알수있었고, α 와 β -CD는 유사한 수준을 보였다. 또한 세척과정에서 탈착되는 CD의 양은 비교적 소량으로 증류수에 의해 쉽게 탈착되지 않았다. 또한 50% ethanol 용액으로 탈착시키는 과정에서 용출되는 각종 CD의 농도를 관찰한 결과 분자량 크기 순서인 γ -, β -, 그리고 α -CD순으로 용출되었으며, 이는 ligand와 CD간의 affinity 차이를 나타낸다.

Fatty Acid의 탄소쇄의 길이와 α -, β - 및 γ -CD의 분리성

각종 CD와 fatty acid간의 complex 형성능은 탄

Table 1. Comparison of recovery yield and selectivity for α -, β -, γ -CDs by different fatty acids derived on DEAE Cellulose.

Ligand	Recovery yield*, %			Selectivity**, %		
	α -CD	β -CD	γ -CD	α -CD	β -CD	γ -CD
Caproic acid	21.80	10.40	9.50	52.28	24.94	22.78
Caprylic acid	13.60	22.50	11.80	28.39	46.97	24.63
Capric acid	31.30	32.10	17.50	38.69	39.68	21.63
Lauric acid	8.20	3.60	3.60	53.25	23.38	23.38
Myristic acid	49.10	41.70	19.00	44.72	37.98	17.30
Palmitic acid	16.70	18.40	16.70	32.24	35.52	32.24
Stearic acid	90.10	75.70	2.10	53.66	45.09	1.25
Oleic acid	56.80	45.90	13.30	48.97	39.57	11.47
Linoleic acid	43.20	95.80	0.00	31.08	68.92	0.00

* Recovery yield: Ratio of recovered to applied CD concentration(%)

** Selectivity: Ratio of each CD to total recovered CDs(%) 10mg/ml of α -, β -, γ -CD mixtures; 10ml, 0.1M fatty acid, DEAE Cellulose; 2.5g, flow rate; 0.2ml/min, elution with 50% ethanol; 20ml, and 25°C

소쇄 길이와 밀접한 상관관계가 있음을 전보(1)에서 관찰한 바 있다. Table 1은 각종 fatty acid를 ligand로한 DEAE Cellulose CD adsorbent에 흡착된 CD를 50% ethanol 용액으로 처리하여 용출된 α -, β -, γ -CD의 농도를 측정하여, column에 부하된 초기 CD량으로 나눈 CD의 회수율과, 회수된 각 CD의 양을 전체 회수 CD량으로 나눈 선택도를 나타낸 결과이다.

α -CD의 회수율은 stearic acid의 경우 90.1%, oleic acid의 경우 56.8%, myristic acid의 경우 49.1%, 그리고 linoleic acid의 경우 43.2%였다. β -CD는 linoleic acid에서는 95.8%, stearic acid에서는 75.7%, oleic acid에서는 45.9%, 그리고 myristic acid에서는 41.7%가 회수되었다. γ -CD는 myristic acid와 capric acid에서 각각 19.0%, 17.5%가 회수되어 다른 CD에 비하여 비교적 낮았다. 이는 전보(1)에서 관찰한 바와 같이 γ -CD는 분자크기가 매우 크기때문에 fatty acid와 친화성이 낮기 때문인 것으로 유추된다. 포화 fatty acid는 탄소수가 증가할수록 α 와 β -CD의 회수율이 향상되는 경향을 보였으며, 불포화 fatty acid에서는 이중결합수가 중요한 영향을 미쳤으며, 숫자가 증가함에 따라 α -CD의 회수율은 감소한 반면 β -CD는 증가하

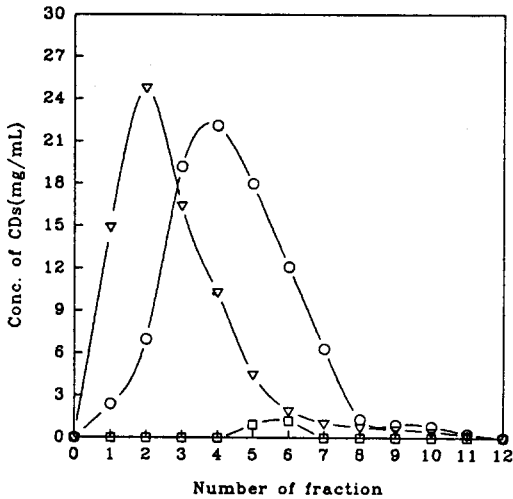


Fig. 6. Fractionation of α , β , and γ -CDs using the stearic acid derivated DEAE Cellulose. α -CD(-○-); β -CD(-▽-); γ -CD(-□-) 10mg/ml of α , β , γ -CD mixtures, 0.1M stearic acid, DEAE Cellulose; 2.5g, flow rate; 0.2ml/min, elution with 50% ethanol, and 25°C.

는 경향을 보였으며, 이는 이중결합이 많을수록 지방산의 두께가 커지기 때문으로 사료된다.

각종 fatty acid의 CD에 대한 선택도를 비교한 결과 α -CD에 대해서는 stearic acid가 53.66%로서 가장 높았고, β -CD의 경우는 linoleic acid로서 68.92%였으며, γ -CD의 경우는 palmitic acid로서 32.24%였다. 전보(1)에서 각종 CD와 matrix에 binding시키지 않은 용액상태의 fatty acid간의 inclusion complex 형성능을 관찰한 바 있다. 이때 α -CD와는 탄소수가 10개인 capric acid가 그리고 β -CD와는 탄소수가 16개인 palmitic acid가 가장 높은 포접형성능을 보였다.

그러나 fatty acid를 DEAE Cellulose와 같은 고체상 matrix에 결합시켜 ligand로 사용할 경우 α -CD는 탄소수가 18개인 stearic acid와 그리고 β -CD는 탄소수가 18개이며 이중결합을 갖는 linoleic acid와 가장 높은 선택도를 보여 매우 상이한 결과를 보였다. 이는 결합된 fatty acid에 CD가 흡착되려면 matrix에 의한 물리적 장애를 극복하여야 하므로 좀더 긴 탄소쇄의 fatty acid가 요구되기 때문으로 사료된다. 이와 같이 CD 회수량과 선택성을

Table 2. Effect of ethanol concentration on recovery yield and selectivity of CDs by stearic acid derivated on DEAE Cellulose.

Conc. of ethanol(%)	Recovery yield*, %			Selectivity**, %		
	α -CD	β -CD	γ -CD	α -CD	β -CD	γ -CD
30	24.10	13.80	5.60	55.40	31.72	12.87
40	85.80	76.40	2.90	51.97	46.27	1.76
50	90.10	75.70	2.00	53.66	45.09	1.25
60	83.70	69.20	2.80	53.76	44.44	1.80
70	75.90	66.70	0.00	53.23	46.77	0.00
80	29.50	69.20	0.00	29.89	70.11	0.00

The same as Table 1. Except 0.1M stearic acid instead of 0.1M fatty acid and eluted with different ethanol concentration solution.

고려할 때 α -CD 분획에는 stearic acid가 β -CD에는 linoleic acid가 가장 적절한 ligand임을 알 수 있었다.

CD Adsorbent들을 이용한 α -와 β -CD의 분획

Stearic acid adsorbent: Fig. 6은 stearic acid CD adsorbent를 이용한 각종 CD의 분획양상을 나타낸 것으로, β -CD는 1~5번 분획에서 α -CD는 3~7번 분획에서 주로 회수되었으며, 이는 stearic acid 분자중의 말단 alkyl기의 CD에 대한 affinity 차이 때문으로 생각된다. CD 혼합액으로부터 α -CD를 고순도로 분획하기 위해서는 β -CD의 저온에서의 낮은 용해도 특징을 이용하여 저온에서 β -CD를 정출시키고 용액중의 α -와 γ -CD를 stearic acid를 ligand로한 CD adsorbent를 이용하여 분획하면 가능할 것으로 생각된다.

또한 흡착된 CD의 탈착량 변화를 검토하기 위하여 용출 ethanol 용액의 농도를 30%에서 80%까지 변화시키면서 회수량과 선택도를 계산한 결과는 Table 2와 같다. α -CD의 회수량은 ethanol농도가 50% 그리고 β -CD는 40%일 때 가장 높았으나, α , β -CD에 대한 선택성에는 ethanol 농도가 큰 영향을 미치지 않았다.

Linoleic acid adsorbent: Fig. 7은 linoleic acid를 ligand로 한 CD adsorbent의 경우 각종 CD의 분리양상을 관찰한 결과로서, α -CD는 1~4번 분획에서 β -CD는 2~9번 분획에서 주로 회수되었다. 이를 stearic acid와 비교하여 보면 α -CD가 먼저 용출되어 매우 상이한 분리 양상을 보였다. 이는 lino-

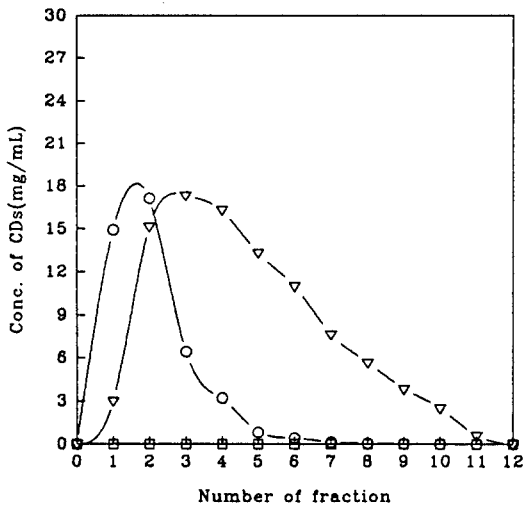


Fig. 7. Fractionation of α , β , and γ -CDs using the linoleic acid derivated DEAE Cellulose.
 α -CD(-○-); β -CD(-▽-); γ -CD(-□-)
 10mg/ml of α , β , γ -CD mixtures, 0.1M linoleic acid, DEAE Cellulose; 2.5g, flow rate; 0.2ml/min, elution with 50% ethanol, and 25°C.

leic acid는 탄소쇄내에 이중결합을 갖는 불포화 fatty acid로 지방쇄 분자의 크기가 크므로 공동이 큰 β -CD는 탄소쇄의 안쪽 부분까지 흡착될수 있는 반면 α -CD는 fatty acid의 말단부위인 alkyl기에 주로 흡착되어 있어 먼저 탈착된 것으로 유추된다.

한편 Table 3은 ethanol 농도 변화에 따른 회수율 및 선택성을 비교한 결과이다. 선택성은 stearic acid에서 관찰한 바와 같이 큰 차이를 보이지 않았으며, 회수율은 α , β -CD 공히 50% ethanol에서 가장 높았다.

위에서와 같이 fatty acid를 ligand로한 CD adsorbent는 회수율이 높고 α 와 β -CD에 대한 선택성이 높아 CD의 분리정제에 적절히 이용될 수 있는 가능성을 제시하고 있다. 앞으로 CD 생성 효소 반응 혼합액으로부터 특정된 CD를 고순도로 분획, 정제하기 위한 CD adsorbent를 이용한 친화성 크로마토그래피에 관한 연구가 요망된다.

요 약

Cyclodextrin의 고순도 분획, 정제를 위한 CD

Table 3. Effect of ethanol concentration on recovery yield and selectivity of CDs by linoleic acid derivated DEAE Cellulose.

Conc. of etha- nol(%)	Recovery yield*, %			Selectivity**, %		
	α -CD	β -CD	γ -CD	α -CD	β -CD	γ -CD
30	36.50	80.70	0.00	31.14	68.86	0.00
40	38.60	88.80	0.00	30.30	69.70	0.00
50	43.20	95.80	0.00	31.08	68.92	0.00
60	37.50	78.50	0.00	32.33	67.67	0.00
70	36.50	43.80	0.00	45.45	54.55	0.00
80	30.50	66.90	0.00	31.31	68.69	0.00

The same as Table 1. Except 0.1M linoleic acid instead of 0.1M fatty acid and eluted with different ethanol concentration solution.

adsorbent의 제조에 적합한 matrix를 선별하기 위하여 capric acid를 ligand로 각종 이온교환수지를 비교 검토한 결과 DEAE Cellulose가 가장 적합함을 알았다. DEAE Cellulose와 capric acid간의 결합 안정성은 온도, ionic strength의 변화에 영향을 받았으며, ethanol 농도의 변화에는 안정하였다. CD adsorbent의 흡착량, 탈착량, 그리고 α , β , γ -CD의 용출양상을 규명하였다. 탄소쇄가 다른 각종 포화, 불포화 fatty acid를 ligand로 하여 specific adsorbent를 제조하였으며, α , β , 및 γ -CD의 회수율과 분리능을 비교 검토 하였다. 그 결과 stearic acid는 α -CD 그리고 linoleic acid는 β -CD에 대하여 높은 회수율과 선택성을 보였으며, 선택성은 fatty acid의 탄소쇄 길이와 이중결합 유무에 의하여 영향을 받았다. Stearic acid와 linoleic acid CD adsorbents를 이용하여 CD 혼합물로부터 α 와 β -CD의 분획양상을 검토하였다.

감 사

이 논문은 1994년도 학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었으며, 연구비 지원에 감사드립니다.

참고 문헌

1. 이용현, 정승환, 박동찬 (1995), 한국생물공학 회지, 10, 149-158.
2. J. Szejtli (1988), *Cyclodextrin Technology*, p. 1-78, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

3. S. Kobayasi, K. Kainuma and S. Suzuki (1978), *Carbohydr. Res.*, **61**, 229-238.
4. 한일근, 이용현 (1991), *산업미생물학회지*, **19**, 163-170.
5. 이용현, 이상호, 한일근 (1991), *산업미생물학회지*, **19**, 171-178.
6. 이용현, 박동찬 (1991), *산업미생물학회지*, **19**, 514-520.
7. K. Horikoshi and N. Nakamura (1979), *US Patent*, 4,135,977.
8. C. Frederick, E. R. Kool and L. Grange (1969), *US Patent*, 3,425,910.
9. M. Okada, M. Matsuzawa and O. Uezima (1983), *US Patent*, 4,384,898.
10. Y. Kato, K. Mikuni, K. Hara, H. Hashimoto, T. Nakajima, S. Kobayashi and K. Kainuma (1988), *J. Ferment. Technol.*, **66**, 159-166.
11. 橋本 仁, 原 耕三, 桑原宣洋 (1986), *澱粉科學*, **33**, 10-14.
12. 橋本 仁, 原 耕三, 桑原宣洋, 細見 淳 (1986), *澱粉科學*, **33**, 25-28.
13. M. Mäkelä, P. Mattsson and T. Korpela (1989), *Biotechnol., Appl. Biochem.*, **11**, 193-200.
14. Y. Tsuchiyama, K. Yamamoto, T. Asou, M. Okabe, Y. Yagi and R. Okamoto (1991), *J. Ferment. Bioeng.*, **71**, 407-412.
15. M. Yamamoto and K. Horikoshi (1981), *Starch*, **33**, 244-246.
16. Y. Tsuchiyama, H. Nomura, M. Okabe and P. Okamoto (1991), *J. Ferment. Bioeng.*, **71**, 413-417.
17. T. Korpela, S. Laakso and M. Mäkelä (1987), *European Patent Application*, EP-0,268,997 A1.
18. M. Mäkelä, T. Korpela, J. Puisto and S. V. Laakso (1988), *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 83-88.
19. T. Kaneko, T. Nakamura and K. Horikoshi (1987), *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, **34**, 45-48.
20. H. Kenneth (1990), *Official Methods of Analysis*, Vol 2, p. 957. AOAC, Virginia.
21. J. Szejtli and E. Bánky-Elöd (1975), *Die Starke*, **27**, 368-376.